

日 本 国 特 許 庁
JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日 2 0 0 3 年 4 月 8 日
Date of Application:

出 願 番 号 特 願 2 0 0 3 - 1 0 3 7 1 5
Application Number:
[ST. 10/C] : [J P 2 0 0 3 - 1 0 3 7 1 5]

出 願 人 横 河 電 機 株 式 会 社
Applicant(s):

2 0 0 3 年 9 月 8 日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

今 井 康



出証番号 出証特 2 0 0 3 - 3 0 7 3 4 2 9

【書類名】 特許願

【整理番号】 02N0186

【あて先】 特許庁長官殿

【国際特許分類】 G01N 27/447

【発明者】

 【住所又は居所】 東京都武蔵野市中町 2 丁目 9 番 3 2 号 横河電機株式会
社内

 【氏名】 福島 和久

【特許出願人】

 【識別番号】 000006507

 【氏名又は名称】 横河電機株式会社

 【代表者】 内田 勲

【手数料の表示】

 【予納台帳番号】 005326

 【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

 【物件名】 明細書 1

 【物件名】 図面 1

 【物件名】 要約書 1

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 生体高分子の抽出方法および抽出装置

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

生体試料から負の電荷を帯びたターゲット生体高分子を抽出する方法であって

、
前記生体試料を含む第 1 の溶液と抽出された生体高分子保存用の第 2 の溶液とがゲルによって区切られ、電気泳動によりターゲット生体高分子を前記第 1 の溶液中から前記ゲルを通過し前記第 2 の溶液中へ移動させてターゲット生体高分子の抽出を行うことを特徴とする生体高分子の抽出方法。

【請求項 2】

請求項 1 記載の生体高分子の抽出方法において、

前記第 1 と第 2 の溶液および生体高分子保存用の第 3 の溶液が前記ゲルによって 3 方向に区切られ、電気泳動により第 1 の溶液中からゲルに移動された生体高分子を前記第 2 または第 3 の溶液中へ移動させて、ターゲット生体高分子の抽出を行うことを特徴とする生体高分子の抽出方法。

【請求項 3】

請求項 1 または 2 記載の生体高分子の抽出方法において、

前記ゲルとして、微小円柱群または多孔質フィルターを用いたことを特徴とする生体高分子の抽出方法。

【請求項 4】

生体試料から負の電荷を帯びたターゲット生体高分子を抽出する装置であって

、
前記生体試料を含む第 1 の溶液と抽出された生体高分子保存用の第 2 の溶液と、前記第 1 と第 2 の溶液を区切るゲルとを保持した電気泳動用の容器と、

前記第 1 の溶液中からゲルを通して第 2 の溶液中へ負の電荷を帯びた生体高分子を電気泳動により移動させるために設けられた正負の電極と、

前記正負の電極に正負の電圧をそれぞれ印加する電源
を備え、前記電極に電圧を印加して前記第 1 の溶液中からゲルを通して第 2 の溶

液中へターゲット生体高分子を移動させて抽出することができるように構成したことを特徴とする生体高分子の抽出装置。

【請求項 5】

請求項 4 記載の生体高分子の抽出装置において、
前記容器には、前記第 1 および第 2 の溶液とは異なる方向で前記ゲルに接触し、前記ゲルより移動された生体高分子を保存するための第 3 の溶液が保持され、前記ゲルから第 3 の溶液中へ負の電荷を帯びた生体高分子を電気泳動により移動させるために設けられた電気泳動用の正負の電極と、
前記正負の電極に正負の電圧をそれぞれ印加する電源
を備え、電気泳動による移動方向を切替えることによりターゲット生体高分子を前記第 2 または第 3 の部屋へ移動させて抽出することができるように構成したことを特徴とする生体高分子の抽出装置。

【請求項 6】

請求項 4 または 5 記載の生体高分子の抽出装置において、
前記ゲルとして、微小円柱群または多孔質フィルターを用いたことを特徴とする生体高分子の抽出装置。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、生体試料の細胞から生体高分子を抽出分離する抽出装置や、その前処理装置、あるいは細胞からの生体高分子の抽出、増幅、検出などを一体的に行うカートリッジなどにおいて使用されるもので、生体試料である生体高分子の中からターゲット生体高分子を分離して抽出する方法および装置に関するものである。

【0002】

【従来の技術】

以下、生体高分子として DNA を例にとって説明する。DNA チップに用いるターゲット DNA を生体細胞から抽出し回収する方法としては、大別して 2 種類の方法がある。1 つは遠心分離による方法であり、他方は磁気ビーズによる方法である。

遠心分離による方法はそのための装置が大がかりであるため、小型化が望まれる将来の方向としては磁気ビーズによる方法が主流になると予測される（磁気ビーズの応用例としては例えば非特許文献1参照）。

【0003】

磁気ビーズによる方法とは例えば次のような方法である。磁気ビーズの表面に、ある密度でプローブDNAあるいはプローブ抗体を固定し、溶液中のターゲットDNAとプローブとの相補結合により溶液中のDNAの回収を行い、その後磁石により磁気ビーズを集め、洗浄した後磁気ビーズ表面からDNAを溶液により解離し回収する方法である。

【0004】

さて、このような磁気ビーズ方式を採用した装置として現在は卓上型パーソナルコンピュータ程度の大きさのものが実現されているが、その装置がチップ化され小型化されたものは未だ出現していない。

ただし、小型チップ化するために、 μ TAS (micro/miniaturized total analysis system) を活用したデバイスは、現在色々な分野で紹介されている（ μ TASについては非特許文献2参照）。

【0005】

【非特許文献1】

松永是監修、「DNAチップ応用技術」、株式会社シーエムシー、2000年7月発行、第7章 磁気ビーズ利用DNAチップ 竹山春子、中山秀喜

【非特許文献2】

庄子 習一、「生化学 マイクロ化学分析システム—マイクロマシン技術—」、第1頁、第1および第2項、図1、[2003/02/26検索]、インターネット<URL: <http://www.jaclap.org/LabCP/p11.html>>

【0006】

【発明が解決しようとする課題】

しかしながら、この μ TASデバイスにおいて、駆動装置であるポンプや、制御装置であるバルブ、そして攪拌装置であるミキサーなどは実用に耐えるものなかなか実現されておらず、そのため流体の移動を伴う μ TASデバイスでは商品化

されたものは多くない。

これは、ミクロの世界では流体の粘性や流路形状等により流体動特性が大きく変わり、経済的および機能的に課題を解決できる要素技術が未だ試行錯誤の段階にあるためと考えられる。

それゆえ、流体の移動を伴うことなく、生体高分子からターゲット生体高分子を分離し抽出できる方式の出現が望まれている。

【0007】

本発明の目的は、上記の課題を解決するもので、流体の移動を伴うことなく、生体高分子からターゲットの生体高分子を分離し抽出（以下単に抽出という）することのできる生体高分子の抽出方法および装置を提供することにある。

【0008】

【課題を解決するための手段】

このような目的を達成するために、請求項1の方法の発明では、
生体試料から負の電荷を帯びたターゲット生体高分子を抽出する方法であって

、
前記生体試料を含む第1の溶液と抽出された生体高分子保存用の第2の溶液とがゲルによって区切られ、電気泳動によりターゲット生体高分子を前記第1の溶液中から前記ゲルを通過し前記第2の溶液中へ移動させてターゲット生体高分子の抽出を行うことを特徴とする。

【0009】

このようにゲルで溶液を2分して電気泳動を行うことにより、溶液を移動することなく目的の生体高分子を別の溶液中に移動させ抽出することができる。

【0010】

また、請求項2のように、ゲル中にある生体高分子を第2または第3のいずれかの溶液へ振り分けて移動させれば、分子量の異なる生体高分子が混在していても目的の生体高分子を分離して抽出することができる。

また、請求項3のようにゲルとしては、微小円柱群または多孔質フィルターを用いることができる。

【0011】

請求項 4 の発明は、

生体試料から負の電荷を帯びたターゲット生体高分子を抽出する装置であって

、

前記生体試料を含む第 1 の溶液と抽出された生体高分子保存用の第 2 の溶液と

、前記第 1 と第 2 の溶液を区切るゲルとを保持した電気泳動用の容器と、

前記第 1 の溶液中からゲルを通して第 2 の溶液中へ負の電荷を帯びた生体高分子を電気泳動により移動させるために設けられた正負の電極と、

前記正負の電極に正負の電圧をそれぞれ印加する電源

を備え、前記電極に電圧を印加して前記第 1 の溶液中からゲルを通して第 2 の溶液中へターゲット生体高分子を移動させて抽出することができるように構成したことを特徴とする。

【0012】

この場合、請求項 5 のように、容器に泳動方向の異なる他の電気泳動用手段を付加することにより、ゲル中の生体高分子を第 2 または第 3 の溶液中に適宜に振り分けて移動させることができる。これにより、分子量の異なる生体高分子が混在していてもターゲット生体高分子を容易に抽出することができる。

また、ゲルとしては、請求項 6 のように、微小円柱群または多孔質フィルターを用いてもよい。

【0013】

【発明の実施の形態】

以下図面を用いて本発明を詳しく説明する。図 1 は本発明に係る生体高分子の抽出方法を実施するための装置の一実施例を示す要部構成図である。本発明では、生体試料である生体高分子〔例えば DNA や RNA (RNA は DNA からの転写産物、すなわち mRNA または rRNA または tRNA または低分子 RNA である)、タンパク質などである〕の中から、負の電荷を帯びた既知のターゲット生体高分子を抽出するものである。通常の電気泳動装置により未知の生体高分子を電気泳動により画定・同定するものとは相違する。

【0014】

なお、本実施例では、生体高分子として DNA (より詳しくは DNA 断片) を

例にとって説明する。図において、1はガラス板などで平型箱状に形成され、DNAの電気泳動を行うための密閉状の容器である。この容器1内には、生体試料を含む溶液（溶液Aまたは第1の溶液ともいう）2と、抽出されたターゲットDNAを保存するための溶液（溶液Bまたは第2の溶液ともいう）3、およびこの溶液AとBを区切るようにその中間に配置されたゲル4が充填されている。

【0015】

また、溶液Aと溶液B中にはそれぞれ負の電極（－電極という）6と正の電極（＋電極という）7が配置されており、この2つの電極には電源8から負と正の電圧がそれぞれ印加される。

【0016】

次に、このような構成における動作を説明する。溶液A中に生体試料を注入しておく。生体試料は、ターゲット生体高分子（ターゲットDNA）とそれ以外の生体高分子が混在したものである。この生体試料中からターゲットDNA5を以下のようにして抽出する。

【0017】

まず、＋電極7と－電極6に電源8からの正負の電圧をそれぞれ印加する。ターゲットDNA5は負の電荷を帯びているため＋電極7側に引き寄せられ、溶液A中からゲル4を通過して溶液B側へと移動する。

なお、他の生体高分子としては、負に帯電していないも、あるいは負に帯電していてもターゲットDNAよりは大きな分子（分子量が重いもの）である。負に帯電していないものは＋電極7側へ引き寄せられず、他方分子量の大きいものはゲル中の移動速度が遅くターゲットDNAと共に溶液B中に移動することはない。

【0018】

このようにして、溶液自体を移動させることなく、容易に溶液A中の生体試料の中からターゲットDNA5のみを溶液B側へ移動させ抽出することができる。

【0019】

なお、本発明は、上記実施例に限定されることなく、その本質から逸脱しない範囲で更に多くの変更、変形をも含むものである。

例えば、溶液A中の生体試料に、ターゲットDNAと同様に負に電荷を帯び、ターゲットDNAよりも分子の小さいもの（分子量の軽いもの）が混在している場合には、図2に示す方式により容易に抽出することができる。

【0020】

図2の装置では、図1に示す電気泳動方向と交差する方向（図面では縦方向）にも電気泳動を行うことができる。以下詳しく説明する。

図2において、容器1は、図1の構成に加えて、ゲル4の下辺側に接触する溶液10（溶液Cまたは第3の溶液ともいう）を保持できるように形成されている。さらに、ゲル4の上辺側と第3の部屋の下端部に電気泳動用の電極11（－電極）と電極12（＋電極）が配置されている。この2つの電極には電源13から適宜に電圧が印加できるようになっている。

【0021】

このような構成において、ターゲットDNAがゲル4中に移動されて来るまで電源8による電気泳動を続ける。このとき、小さい分子（分子量の軽い分子）は既に溶液B中へ移動している。

ターゲットDNA5がゲル4中に移動してきたとき、電源8による電圧印加を停止して他方の電源13による電圧印加を開始すると、ゲル4中のターゲットDNA5は溶液C中へ移動して来る。このようにして、ターゲットDNA5を容易に生体試料から抽出することができる。

【0022】

なお、抽出の操作は上記に限らず次のようにしてもよい。まず分子の小さい他のDNAのみをゲル4中に移動させ、そこで電源13による電圧印加に切替えて溶液C中へ生体高分子を移動させる。その後再び電源8による電圧印加に切替えてターゲットDNA5をゲル4を介して溶液C中へ移動させるようにしても構わない。

【0023】

また、ゲルとしては、微小な柱（ピラー）のアレイである微小円柱群、または多孔質で形成された多孔質フィルターを使用することもできる。

また、実施例ではDNAを例にとって説明したが、本発明はDNAに限らず、

負の電荷を帯びた各種の生体高分子を対象に抽出することができる。

【0024】

【発明の効果】

以上説明したように本発明によれば、 μ TAS活用のデバイスで必要としたポンプやバルブ、ミキサーなどを用いることなく、また溶液などの移動を伴うことなく、生体試料からターゲット生体高分子を容易に抽出することができる。

【0025】

なお、 μ TAS技術を応用したデバイスは今後色々と実用化されて来る。そのとき、成分の分離や抽出が目的であり、しかも対象が電荷を帯びているような場合には、電気泳動により抽出を行うことが可能であり、機構が複雑となるポンプやバルブを使わなくてもその目的を達成することができる箇所には本発明を適用することができ、その効果は大である。

【0026】

また、細胞から分子あるいは生体高分子を抽出する抽出装置や前処理装置、あるいは抽出機能およびDNA増幅機能そして検出反応を一体型で行うようにしたカートリッジなどにおいては、分子あるいは生体高分子の中からターゲット分子を分離・抽出する部分に本発明を適用することができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】

本発明に係る生体高分子の抽出方法を実施するための装置の一実施例を示す要部構成図である。

【図2】

本発明の抽出方法を実施するための装置の他の実施例を示す要部構成図である。

【符号の説明】

- 1 容器
- 2 溶液A
- 3 溶液B
- 4 ゲル

5 ターゲット DNA

6、7、11、12 電極

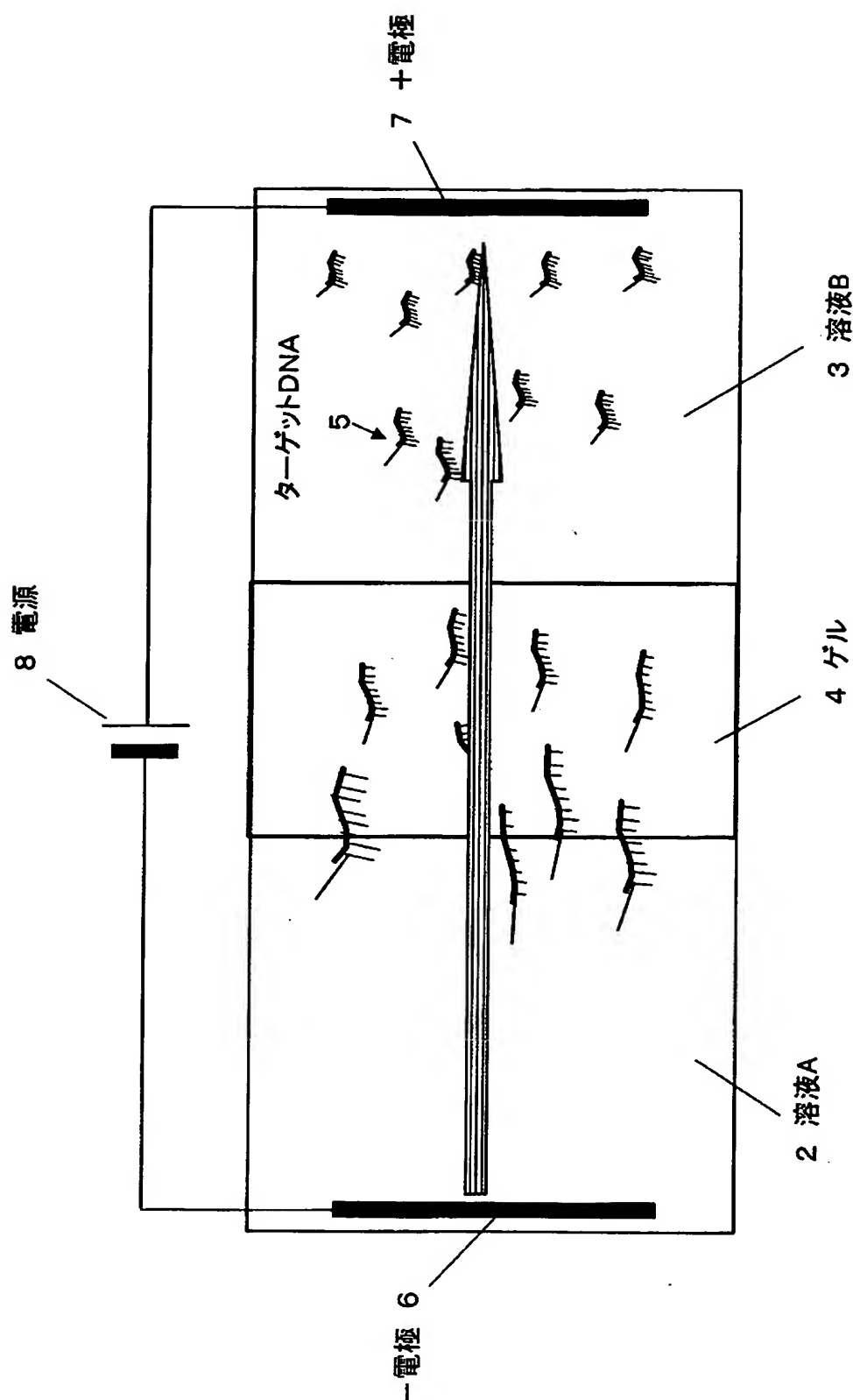
8、13 電源

10 溶液 C

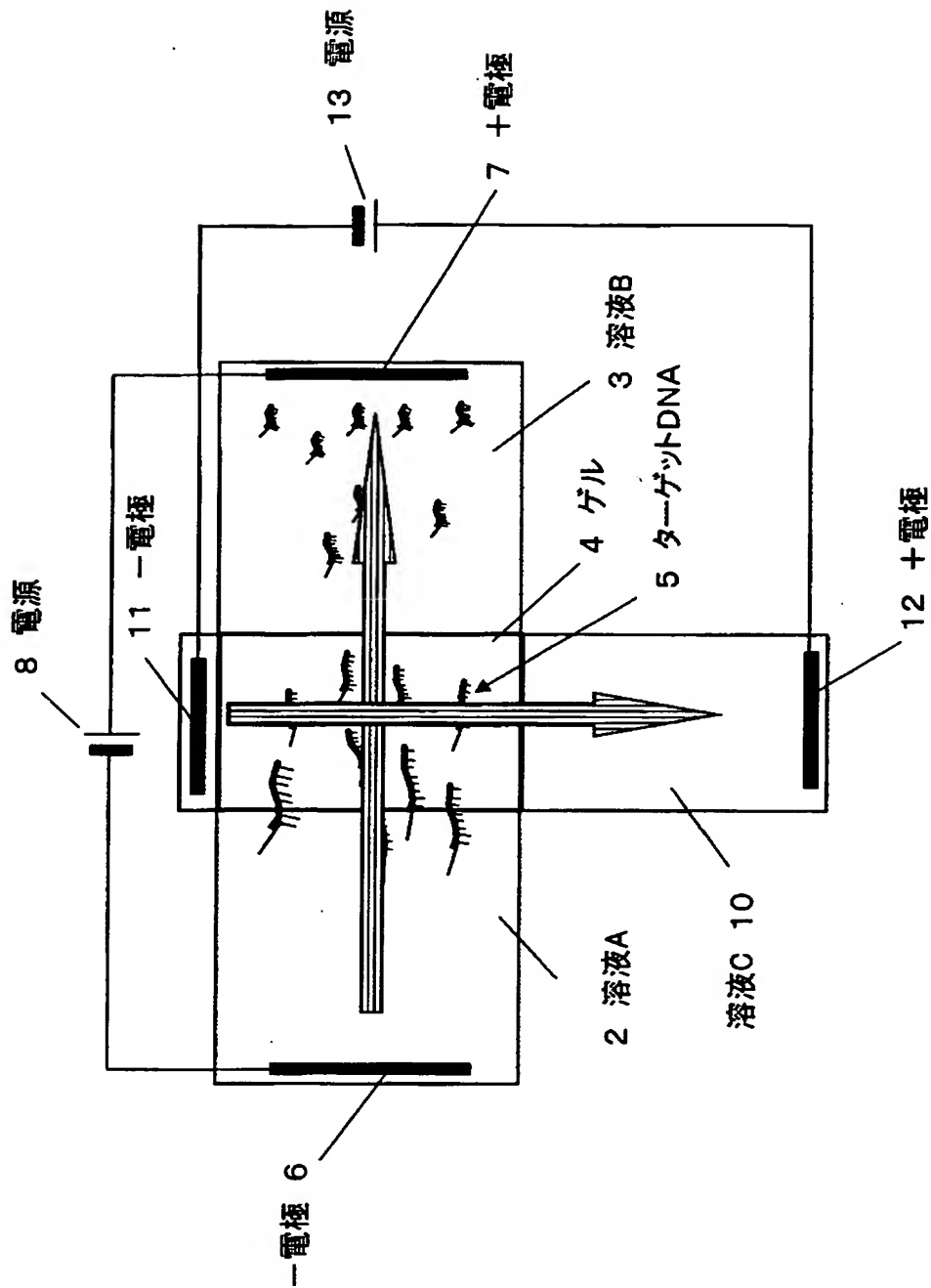
【書類名】

図面

【図 1】



【図 2】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】流体の移動を伴うことなく、生体高分子からターゲットの生体高分子を分離し抽出することのできる生体高分子の抽出方法および装置を提供する。

【解決手段】生体試料から負の電荷を帯びたターゲット生体高分子を抽出する方法であって、前記生体試料を含む第1の溶液と抽出された生体高分子保存用の第2の溶液とがゲルによって区切られ、電気泳動によりターゲット生体高分子を前記第1の溶液中から前記ゲルを通過し前記第2の溶液中へ移動させてターゲット生体高分子の抽出を行う。

【選択図】 図1

認定・付加情報

特許出願の番号	特願 2 0 0 3 - 1 0 3 7 1 5
受付番号	5 0 3 0 0 5 7 9 5 0 6
書類名	特許願
担当官	第一担当上席 0 0 9 0
作成日	平成 1 5 年 4 月 9 日

< 認定情報・付加情報 >

【提出日】	平成15年 4月 8日
-------	-------------

次頁無

特願 2003-103715

出願人履歴情報

識別番号

[000006507]

1. 変更年月日

1990年 8月10日

[変更理由]

新規登録

住 所

東京都武蔵野市中町2丁目9番32号

氏 名

横河電機株式会社